

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

技术文献  
英文要約  
F-8074

(11)Publication number : 2001-086895  
(43)Date of publication of application : 03.04.2001

(51)Int.CI.

A01K 61/00  
A61D 7/00  
A61K 39/00  
A61K 45/00

(21)Application number : 11-269992

(71)Applicant : NATIONAL RESEARCH INSTITUTE  
OF AQUACULTURE

(22)Date of filing : 24.09.1999

(72)Inventor : NAKANISHI TERUYUKI  
OTOTAKE MITSURU

## (54) METHOD FOR INOCULATING AGENT INTO FISHES

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method for inoculating an agent into fishes.

SOLUTION: This method comprises forming a wound on the surface of a body of fish by thrusting a needle such as a multiple short needle into the body of fish, permeating an agent such as a vaccine for at least one of bacterial diseases, viral, diseases and parasitic diseases of fishes into the body of fish. The permeation of the agent is carried out by immersing the body of fish in an agent solution or spraying or coating the body of fish with the agent solution.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 24.09.1999

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 20.03.2002

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection] 2002-06897

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection] 19.04.2002

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-86895

(P2001-86895A)

(43) 公開日 平成13年4月3日 (2001.4.3)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

A 01 K 61/00

A 61 D 7/00

A 61 K 39/00

45/00

識別記号

F I

テ-マコ-ト(参考)

A 01 K 61/00

B 2 B 1 0 4

A 61 D 7/00

C 4 C 0 8 4

A 61 K 39/00

A 4 C 0 8 5

45/00

審査請求 有 請求項の数 6 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号

特願平11-269992

(22) 出願日

平成11年9月24日 (1999.9.24)

(71) 出願人 593059887

農林水産省水産庁養殖研究所長

三重県度会郡南勢町中津浜浦422-1

(72) 発明者 中西 照幸

三重県度会郡玉城町佐田182-2

(72) 発明者 乙竹 充

三重県度会郡玉城町佐田411-2

(74) 代理人 100091096

弁理士 平木 祐輔 (外1名)

F ターム(参考) 2B104 BA14

4C084 AA17 NA10 ZB092 ZB332

ZB352 ZC652

4C085 AA03 BA07 BA51 BA99 CC07

CC08 GG10

(54) 【発明の名称】 魚類への薬剤接種法

(57) 【要約】

【課題】 魚類への薬剤接種法の提供。

【解決手段】 魚体の表面に傷口を形成し、該傷口から薬剤を魚体内に浸透させることを特徴とする、魚類への薬剤の接種方法。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】魚体の表面に傷口を形成し、該傷口から薬剤を魚体内に浸透させることを特徴とする、魚類への薬剤の接種方法。

【請求項2】傷口が針を突き刺すことにより形成されるものである請求項1記載の接種方法。

【請求項3】針が多短針である請求項2記載の接種方法。

【請求項4】薬剤の浸透が、魚体を薬剤溶液に浸漬させること、魚体に薬剤溶液を噴霧すること又は塗布することにより行われるものである請求項1記載の接種方法。

【請求項5】薬剤がワクチンである請求項1記載の接種方法。

【請求項6】ワクチンが、魚類の細菌性疾病、ウイルス性疾病及び寄生虫病の少なくとも1つに対するものである請求項1記載の接種方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、魚体の表面に傷口を形成し、該傷口から薬剤を魚体内に浸透させることを特徴とする、魚類への薬剤の接種方法に関する。

## 【0002】

【従来の技術】水産増養殖業の高度化に伴い魚病が多発し、深刻な被害をもたらしている。これら魚病の防除対策として、その大きな部分を抗菌性医薬品の投与による被害軽減に頼っているのが現状である。しかし、これら抗菌性医薬品等の使用は多剤耐性菌の増加や薬剤の魚体への残留による食品衛生上の問題及び環境中への拡散による公衆衛生上の問題を孕んでいる。しかも、最近、水産養殖並びに栽培漁業のための種苗生産の場において、抗菌性医薬品では対処できないウイルス性疾病が蔓延し、深刻な事態が生じている。こうした中で、耐性菌、残留等の問題がなくウイルス性疾病に対しても有効な、ワクチンをはじめとする魚類の生体防御機能を利用した根本的且つ安全性の高い病害防除技術の確立が関係方面から強く期待されている。

【0003】魚類ワクチンの接種法として、これまで経口法、浸漬法及び注射法などが知られている。経口法は、ワクチンを餌に混ぜて投与するという簡便な方法によるため手間がかからず理想的な接種法であるが、胃の消化酵素等によりワクチンの免疫原性が低下してしまうことなどから高い有効性・持続性を得ることは困難である。また、浸漬法は、経口法に比べ有効性が高く大量の魚を同時に処理することができることから広く普及しているが、魚体に取り込まれるワクチンが少量であるため、高い有効性が認められるのはビブリオ病など一部の疾病に対するワクチンに限られている。一方、注射法は、直接、魚体にワクチンを注入するため、経口法及び浸漬法よりも高い免疫状態を確立することができる。近

10

20

30

40

50

年、ヨーロッパを中心としてサケ科魚類のせっそう病や冷水性ビブリオ病に対するアジュバント添加の注射ワクチンが高い有効性を示すことが証明されたことなどから、注射法は世界中で広く採用されるに至っている。我が国においても、マダイのイリドウイルス病、ブリの類結節症、ニジマスの連鎖球菌症等に対するワクチンの接種は、注射法によって行われる趨勢にある。しかし、注射法には、稚魚への適用が困難であること、多大な労力が必要であること、魚に与えるストレスが大きいこと、作業者への誤注射の危険性があることなどの克服すべき課題も多い。特に、注射法は稚魚への適用が困難であるため、アユやニジマスの冷水病やサケ科魚類の伝染性造血器壞死症(IHN)及び伝染性脾臓壞死症(IPN)、ハタ類やカレイ類の中枢神経壞死症(VNN)等の稚魚期に甚大な被害をもたらす疾病に用いることができず、稚魚へ効果的にワクチンを接種する方法の開発が関係方面より強く要請されている。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、魚体の表面に傷口を形成し、該傷口から薬剤を魚体内に浸透させることを特徴とする、稚魚への適用も可能な魚類への薬剤の接種方法を提供することを目的とする。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題を解決するため、鋭意研究を行った結果、ワクチン溶液に浸漬した魚体の表面に傷口を形成させることによって、魚体内にワクチンを効果的に取り込まれ、該魚に疾患に対する耐性を確立することに成功し、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は、魚体の表面に傷口を形成し、該傷口から魚体内に薬剤を浸透させることを特徴とする、魚類への薬剤の接種方法である。ここで、傷口は針(例えば、多短針)を突き刺すことにより形成され得る。また、薬剤の浸透は、魚体を薬剤溶液に浸漬させること、魚体に薬剤溶液を噴霧すること又は塗布することにより行われ得る。薬剤としては、ワクチン(例えば、魚類の細菌性疾病、ウイルス性疾病及び寄生虫病の少なくとも1つに対するもの)が挙げられる。

## 【0006】

【発明の実施の形態】本発明の魚体への薬剤の接種法は、従来の接種法とは異なり、魚体の表面に傷口を形成し、該傷口から薬剤を浸透させる方法(経皮接種法ともいう)である。より具体的には、本発明の薬剤接種法は以下のようなものである。

## 【0007】1. 本発明の薬剤接種法による魚類への薬剤接種

魚類への薬剤の接種は、以下のようにして行うことができる。すなわち、まず、魚体の表面(例えば、胸部、腹部、体側部、尾部、鰓部など)に、薬剤が体内に浸透し得且つ魚体に致死的なダメージを与えない程度の傷を物理的に形成する。ここで、傷の形成に用いることができ

る器具としては、針、ナイフなどが挙げられる。傷の形成は、それらの機具の仕様に応じて、針の場合には突き刺すか又は引っ掻くことにより、ナイフの場合には切れ込みを入れることによって行う。また、針を用いる場合には、体内への薬剤の浸透率を上昇させるために、複数の針が備えてある多短針を用いることが好ましい。本明細書中において多短針とは、複数の針を備えた管針をいう。管針の一例を図1に示した。ここで、多短針に備えられている各針の太さは、0.1～0.5mm、好ましくは0.2～0.3mmである。また、針の長さは、0.1～5mm、好ましくは0.5～2mmである。多短針を構成する針の数は、2～1,000本、好ましくは10～100本、最も好ましくは10～20本である。しかし、上記多短針の針の太さ、長さ、数はこれらに限定されるものではなく、対象の魚に応じて適当に変えることが可能である。多短針は、市販されているもの（例えば有隣特殊工業株式会社製）のものを用いることもできる。

【0008】次いで、魚体表面の傷口から薬剤を浸透させる。ここで、薬剤の浸透は、魚体を薬剤溶液に浸漬させること、魚体に薬剤溶液を噴霧すること又は塗布することなどにより行うことができる。魚体の薬剤溶液への浸漬、魚体への薬剤溶液の噴霧又は塗布は、魚体表面の傷形成の前後を問わずあらゆる時点において行うことができる。従って、例えば、魚体表面に傷口を形成した後に、薬剤溶液に魚体を浸漬して薬剤を魚体内に浸透させてもよく、魚体を薬剤溶液に浸漬した後に、魚体表面に傷口を形成し薬剤を魚体内に浸透させてもよい。薬剤としては、ワクチン（例えば、魚類の細菌性疾病、ウイルス性疾病及び寄生虫病用のワクチン）、成長ホルモン、免疫増強剤、抗生物質などが挙げられるが、特に限定されない。薬剤を接種する場合の薬剤の濃度は、通常、その薬剤を注射法によって接種する場合に採用する濃度の1分の1～100分の1、好ましくは2分の1～10分の1程度であり得る。

【0009】上記薬剤接種法の適用対象となる魚としては、ブリ、カンパチ、マダイ、ヒラメ、カレイ、フグ、ウナギ、ニジマス、ギンザケ、テラビア、アユ、などの食用養殖魚、色ゴイ、金魚、各種熱帯魚などの観賞用養殖魚が挙げられるが、これらに限定されない。また、前記適用対象となる魚は、稚魚・成魚を問わずあらゆる成長過程のものであり得る。また、必要に応じて、魚体を麻酔してから、傷口の形成及び薬剤の浸透を行うこともできる。麻酔に用いることができる薬剤としては、FA100(田辺製薬)などが挙げられる。

【0010】例えば、本願明の薬剤接種法による、ニジマスへのサケ科魚類β溶血性連鎖球菌症不活化注射ワクチンの接種は以下のようにして行うことができる。すなわち、まずニジマスを麻酔する。次いで、該ニジマスを $10^8$ ～ $10^9$  cell/mlに調製した上記ワクチン満たした容器に浸漬する。最後に、該ニジマスに、多短針を針が0.

1～1mmニジマス表皮に刺さる程度に圧刺し、0.1～1秒間圧刺した状態を維持することによって薬剤を魚体内に浸透させる。

【0011】2. 本発明の薬剤接種方法による魚体への接種効率の評価

上記1において、本発明の薬剤接種方法による魚体への接種効率は、以下のようにして評価することができる。すなわち、①薬剤を接種していない魚類、②本発明の接種方法によって薬剤を接種した魚類及び③従来の薬剤接種法（例えば、浸漬法、注射法など）によって薬剤を接種された魚類について、病原菌接種後の死亡率、成長度、遊泳状態などを調べ、調査結果を比較する。例えば、本発明の接種方法による、サケ科魚類β溶血性連鎖球菌症不活化注射ワクチンの接種効率について評価する場合には、上記①～③の群に、サケ科魚類β溶血性連鎖球菌を人為的に接種した後の死亡率を調べ、②の群の死亡率が①の群の死亡率よりも低ければ、本発明の接種方法によって病原性細菌に対する耐性が確立されたと評価し、②の群の死亡率が③の群の死亡率よりも低ければ、

10 本発明の接種方法は従来法よりも接種効率が高いと評価することができる。

【0012】

【実施例】以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明は、これら実施例にその技術的範囲を限定するものではない。

【実施例1】多短針を用いた経皮接種法による魚類へのワクチン接種

ワクチンとして、サケ科魚類β溶血性連鎖球菌症不活化注射ワクチン（共立商事製、原液濃度： $10^9$  cell/ml）を用いた。経皮接種群は、200ppmのFA100(田辺製薬)に浸漬することによって麻酔した体重5～10gのニジマスを、2倍に希釈したワクチン液を満たしたバットに入れ、図2のようにBCCの経皮接種用いられている管針で左右の体側の2カ所を圧刺することにより接種した。陽性対照としては、ワクチン原液を0.1mlずつ腹腔内に注射接種した群を設定した。また、比較対照としては、無処理の群及び10倍に希釈したワクチン液にニジマスを2分間浸漬した群を設定した。さらに、陰性対照として、ワクチン処理を行わない無処理群を設定した。

40 【0013】ワクチン接種2週間後、病魚から分離されたβ溶血性連鎖球菌をトリプトソーヤブイヨン(1リットル中：カゼインペプトン17.0g、ダイズペプトン3.0g、塩化ナトリウム5.0g、ブドウ糖2.5g、磷酸1水素カリウム2.5g)で、25°Cで、24時間培養後、1万倍に希釈し、1尾あたり0.1mlずつ腹腔内に注射し攻撃した。菌攻撃後2週間毎日死亡魚を計数すると共に、連鎖球菌症による死亡であることを攻撃菌に対する特異血清を用いた凝集試験により確認した。各群30尾ずつ使用し、同様の試験群を3群設定し、結果はその平均値で表した（図3）。飼育水温は試験期間中15°Cに設定した。

【0014】図3に示すように、2倍に希釈したワクチン液を多短針を用いて経皮接種した群(図3中、▲)は注射接種群(図3中、●)に匹敵する有効性を示した。一方、浸漬投与群(図3中、△)では、無処理群(図3中、○)と同様に殆ど有効性が認められなかつた。以上のことより、本発明の薬剤接種法は、注射法と同等の高い接種効率を実現し得ることがわかつた。

〔0015〕〔実施例2〕多短針を用いた経皮接種法による高希釈率ワクチンの接種  
より希釈率の高いワクチンを用いた場合の、本発明の経皮接種法によるワクチン接種の有効性を調べた。以下に述べる条件以外については、実施例1に述べた方法により実施した。多短針を用いた経皮接種群は、ワクチンを原液及び10倍に希釈した2群を設定した。注射接種群については、腹腔内注射群に加えて皮内注射群を設定し、いずれもワクチン原液0.1mlずつを腹腔内及び背ビレ下方の筋肉内に注射した。2週間後のβ溶血性連鎖球菌接種後の累積致死率の結果を図4に示した。

【0016】原液(図4中、△)及び10倍に希釈したワクチン液(図4中、▲)を多短針を用いて経皮接種した群は、腹腔内(図4中、●)及び皮内注射接種群(図4

\* 中、□) に匹敵する有効性を示した。一方、無処理対照群(図4中、○)では全く有効性が認められなかった。以上の結果から、本発明の接種法を用いれば、10倍に希釈したワクチンを用いた場合においても、原液ワクチンを注射した場合と同等の高い接種効率を実現し得ることがわかった。

[ 0 0 1 7 ]

【発明の効果】本発明によって、従来の注射法に比べ簡便であり、且つ注射接種が難しい稚魚へ適用が可能な薬剤接種法が提供される。

## 10 剤接種法が提供される。

### 【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の薬剤接種法において用いた多短針を示す写真である。

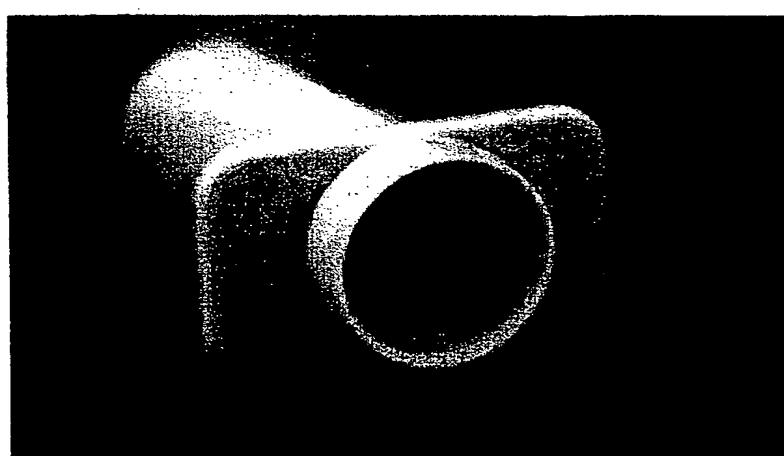
【図2】多短針を用いて魚体ワクチン接種をしている状態を示す写真である。

【図3】各種接種法によるサケ科魚類β溶血性連鎖球菌症不活性ワクチンの有効性の比較を示すグラフである。

【図4】各種接種法による希釈したサケ科魚類β溶血性

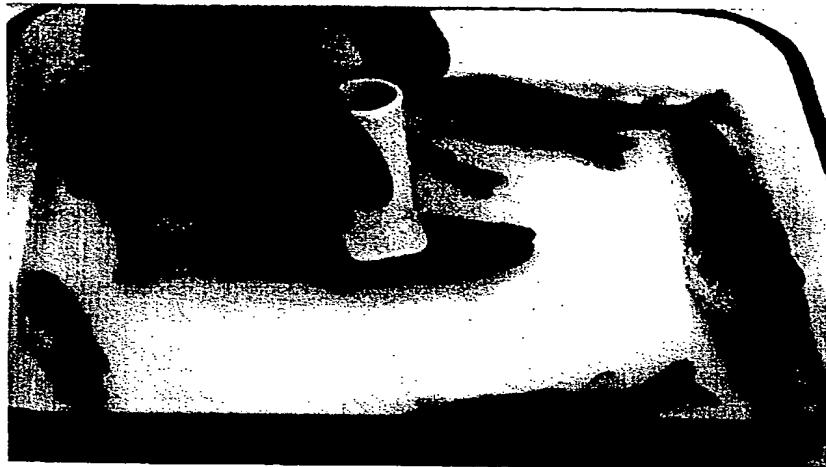
は 20 である。

111

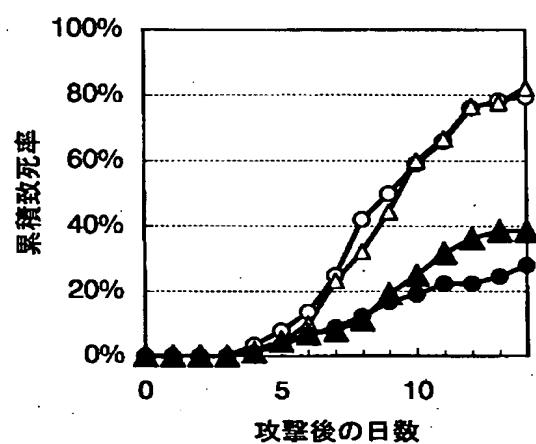


**BEST AVAILABLE COPY**

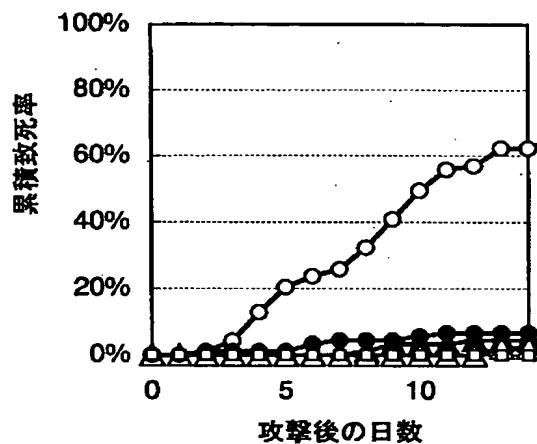
【図2】



【図3】



【図4】



BEST AVAILABLE COPY